Cryptogamie : Algologie, 1982, III, 4 : 329-338

LE PLANCTOTUNNEL : UNITÉ AUTOMATIQUE DE CULTURE STÉRILE DE MICRO-PHYTOPLANCTON

Jean-Luc BOUTRY*

RÉSUMÉ. — Le Planctotunnel est une unité automatique de culture stérile de phyto- et zoo-plancton qui maintient la culture en phase exponentielle de croissance sans repiquage. Le prototype, d'un volume de 75 litres, produit régulièrement et au choix

— soit 34 litres de culture stérile de 10 à 14 millions cel./ml tous les quatre jours,

— soit un écoulement continu de 708,4 ml/heure à 10-11 millions cel./ml pendant les périodes d'éclairage.

ABSTRACT. — Planctotunnel is a self-acting apparatus to product sterile culture of phyto- and zoo-plankton and to maintain exponential period of growth without subculture; the prototype, containing 75 litres, produce regularly either :

— whether 34 litres fractions with 10 to 14 million cells/ml each 4 days,

— or a continuous discharge of 7-8,4 ml/hour with 10 to 11 million cells/ml during light periods.

INTRODUCTION

Par sa forme spécifique de tunnel, et par le mouvement général d'entraînement en circuit continu du liquide de culture assuré par les gaz d'aération, le **Planctotunnel** a pour principales qualités :

1) de supprimer le repiquage après chaque récolte;

2) de maintenir la culture stérile en phase exponentielle de croissance pendant tout le fonctionnement de l'appareil;

3) d'effectuer une agitation et une aération puissante de la culture stérile de plancton sans provoquer de turbulences nuisibles aux micro-organismes;

4) de rendre possible l'automatisme de cette culture stérile de phyto- ou zoo-plancton en assurant un apport continu de milieu neuf, la récolte étant alors au choix :
— soit par fractions volumiques définies,
— soit par écoulement continu;

* Laboratoire de Biochimie, Institut Universitaire de Technologie, 17026 La Rochelle, France.

Source : MNHN, Paris

5) d'avoir un rendement de production, 2,46 fois supérieur (714×10^9 cellules/semaine) à ceux des montages précédemment décrits par WALNE (1966) (290×10^9 cellules/semaine), et par DROOP (1975) (Chemostat, 280×20^9 cellules/semaine).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Confection de l'appareil

Au total, 11 plaques de verre ordinaire de 8 mm d'épaisseur sont nécessaires. En tenant compte de l'épaisseur du verre, les cotes sont les suivantes :

1 plaque du «haut-fond» des tunnels (Figure n° 1) : de 608 mm sur 500 mm avec deux chanfreins à angles de 45°;

2 plaques de pieds (montants intérieurs) (Figure n° 1) : de 233 mm sur 500 mm avec deux chanfreins opposés sur les longueurs à angle de 45°;

1 plaque de séparation des deux tunnels (Figure n° 2) : de 1016 mm de longueur, avec deux pieds de 250 mm de hauteur de 125 mm d'ambase, et «haut-fond» de 600 mm de longueur sur 92 mm de hauteur, avec angles arrondis de 135° et avec joints plats grès;

1 plaque de couvercle (Figure n° 2) : de 1074 mm de longueur sur 556 mm de largeur, avec joints plats grès. Deux trous de 12 mm de diamètre sont percés

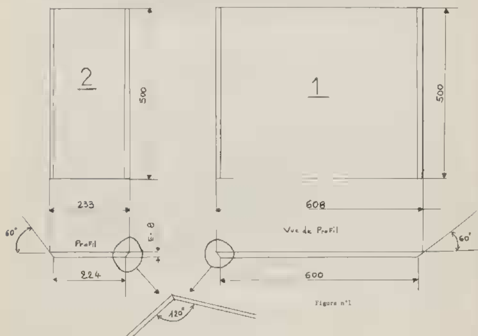
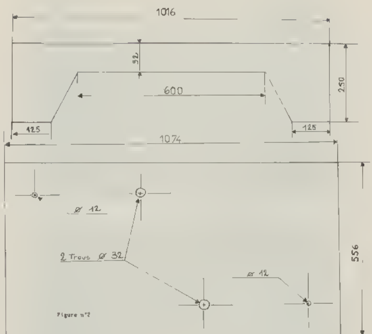
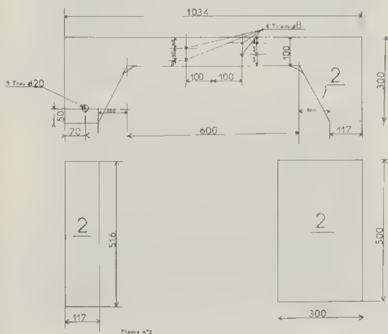


Figure n°1





Figures n^{os} 1, 2 et 3. — Dessins cotés des plaques de verre de construction.

Source MNHN, Paris

chacun á 100 mm des coins, et sont diagonalement opposés. Deux trous de 32 mm de diamètre sont percés dans les angles libres à 100 mm et 630 mm des bords, et sont diagonalement opposés;

2 plaques de pieds (montants extérieurs) (Figure n° 3) : de 300 mm sur 500 mm avec joints plats grés;

2 plaques de pieds (fonds d'appui) (Figure n° 3) : 516 mm sur 117 mm avec joints plats grés;

2 plaques de bords des tunnels (Figure n° 3) : de 1034 mm de longueur avec deux pieds de 300 mm de hauteur et 117 mm d'embase, «haut-fond» de 600 mm de longueur sur 100 mm de hauteur, angles pied-«haut-fond» de 135° arrondis, avec joints plats grès. Dans le pied gauche de chaque plaque un trou de 25 mm de diamètre est percé á 50 mm de la base et à 70 mm du bord externe (pour la pause de l'aérateur). Dans le bord du tunnel de 600 mm de long, sont percés quatre trous de 8 mm de diamètre répartis deux par deux et intercalés à 40 mm de hauteur les uns des autres, (pour l'écoulement des récoltes).

Le collage de l'ensemble des 11 plaques est effectué en une fois avec une colle siliconnée «Emossil V23-2 translucide» ; après 24 heures d'attente, le colmatage final est assuré, et l'appareil est laissé en attente durant 24 heures supplémentaires pour assurer le durcissement de la colle, (Figure n° 4).

A la base externe de chaque tunnel, á l'endroit percé (Fig. n° 5), sont montés deux grands diffuseurs «Hobby Long-Long» de 250 mm de longueur; les tuyaux d'alimentation des gaz sont en «Rhodorsil excanal Prolabo».

L'air utilisé, provenant d'un groupe compresseur «Pioneer», est stérilisé par deux filtrations successives sur membrane «Téflon» stérile «Millipore type Millex FG 0,20 μm), et son débit est contrôlé avec un débimètre «Brooks modèle R2-15C avec flotteur verre taille 2 (débit 19 à 190 Nl/h)», le débit du gaz carbonique, lui aussi filtré à 0,20 μm, est contrôlé avec un débimètre «Brooks modéle R215D MM avec flotteur acier inox taille 2 (débit 4 à 40 Nl/h». La commande du flux de CO_2 est assurée par une vanne électromagnétique «SIB modèle WP 6i OT avec joint Viton» : cette vanne est commandée par le chronorupteur assurant le cycle d'éclairage, afin que la culture ne reçoive du CO_2 qu'en période lumineuse.

Culture

Tout l'ensemble monté est stérilisé à l'eau de Javel pure, puis rincé deux fois á l'eau distillée stérile, puis encore deux fois à l'eau de mer stérile.

Le planctotunnel est alors rempli de 70 litres de milieu de culture stérile, les diffuseurs étant déjà alimentés en air stérile avant le remplissage. Quand la climatisation désirée est obtenue (+ 18° dans une salle stérile thermostatée) l'ensemencement est effectué avec 4 litres de préculture; l'éclairage (12h/24h) commandé par un chronorupteur programmable est mis en route ainsi que l'enrichissement de l'air en CO_2 (à 0.5, 1.2 ou 3% suivant la souche) commandé par la vanne électromagnétique sujette du même chronorupteur, (cycle nycthéméral).

L'écoulement de la récolte se fait par les trous de 8 mm des plaques des

Source MNHN, Paris







Figure n° 4. — Photographie de l'appareil monté et vide.
Figures n^os 5 et 6. — Photographies de l'appareil en fonctionnement.

Source : MNHN, Paris

tunnels suivant le volume désiré (Figure n° 6).

Automatisme des récoltes

Une fois la culture parvenue en phase exponentielle de croissance, la récolte peut commencer : soit par fractions volumiques (20 ou 34 litres avec le prototype), soit en continu, mais ceci **toujours durant les périodes d'éclairage.**

A) **Par fractions volumiques** : le Planctotunnel est muni d'un siphon de vidange réglé pour fonctionner à sa hauteur maxima de remplissage, et un flotteur électromagnétique «Télémécanique», placé dans le pied du tunnel, commande par un relais «prolabo» une vanne électromagnétique «SIB modéle PE 12 N BB» qui, placée á l'entée de l'appareil de culture, est traversée par le tuyau d'écoulement de milieu neuf stérile.

Quand l'appareil est plein de culture mature, le flotteur ferme la vanne d'entrée du milieu de culture, et le siphon réglé au même niveau vidange l'appareil du volume choisi, (en 20 minutes pour 34 litres avec le prototype).

Quand le flotteur descend au niveau minimum de désamorçage du siphon, la vanne d'entrée du milieu de culture s'ouvre à nouveau et l'écoulement est réglé par pointeau à 34 litres en 4 jours, soit 708,4 ml/h en limitant l'écoulement aux périodes d'éclairage avec le chronorupteur (mesures de débit convenant à la prolifération des trois souches-témoins cultivées dans le prototype): Ainsi 4 jours aprés, la vidange se réalise á nouveau, et ainsi de suite.

B) **En continu** : le siphon de vidange est remplacé par un simple trop-plein : l'écoulement de milieu neuf est réglé á 708,4 ml/h (soit 34 litres en 4 jours) durant les périodes d'éclairage (le chronorupteur fermant la vanne d'entrée en phase obscure). Quand le niveau maximum de culture mature est atteint dans l'appareil, le trop-plein assure l'écoulement de la culture mûre au même débit que l'entrée de milieu vierge stérile (mesures de débit convenant á la prolifération de *Phaeodactylum tricornutum*, *Monocrysis lutherii* et *Chaetoceros calcitrans* cultivées dans le prototype).

RÉSULTATS

Performances obtenues

Trois souches ont été successivement cultivées avec ce Planctotunnel ; *Phaeodactylum tricornutum*, et deux Diatomées *Monocrysis lutherii* et *Chaetoceros calcitrans*, dans de l'eau de mer stérile enrichie á 2,5 % de E. S. Provasoli (PROVASOLI, 1966). Cycle lumineux nycthéméral 12h/24h á 5800°K et une puissance de 163000 Lux sur le couvercle de l'appareil; l'aération étant faite par de l'air stérile enrichi, selon la souche cultivée, de CO_2 de 0,5 á 2,5 % en phase lumineuse, et par de l'air pur en obscurité (Von STOSCH et DREBES 1964; CLARK, 1964; SOEDER, 1974).

Les concentrations maxima obtenues pour les souches étudiées ont été de 11 á 14 millions de cellules par millilitre de culture.

Source : MNHN, Paris

Le planctotunnel a un volume total de 75 litres : on le remplit de 70 litres de milieu stérile de culture. L'ensemencement de départ est assuré avec 4 litres de préculture de la souche choisie à 10 millions cel./ml. La première récolte a lieu 14 jours après l'ensemencement et est de 20 litres à 11 millions de cel./ml : par la suite 3 à 4 jours de culture suffisent entre chaque récolte de 34 litres à 11-14 millions de cel./ml, en ajoutant également 34 litres de milieu neuf stérile après chacune de ces récoltes.

Cet appareil, rempli de 70 litres, produit donc, en un mois, 156 litres de culture stérile en phase exponentielle de croissance et ayant une bonne concentration de cellules. Les rendements obtenus peuvent encore être très améliorés.

Exemple type de culture

L'exemple donné (Figure n° 7 et Tableau I) est celui des cultures de *Monocrysis lutherii* (appelée aussi *Pavlova lutherii*) et de *Chaetoceros calcitrans.*

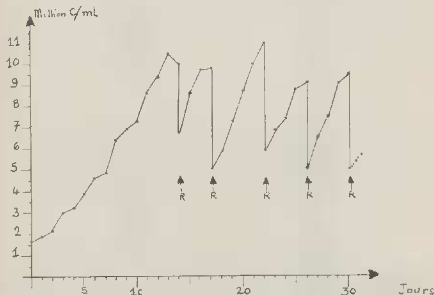


Figure n° 7. — Courbe de prolifération de *Monocrysis lutherii* dans le Planctotunnel.

DISCUSSION

Vulnérabilité

Le prototype a été expérimenté pendant un an et a donné satisfaction : le seul risque noté pour une utilisation continue est la contamination bactérienne, si

Source MNHN, Paris

TABLEAU N° I

Proliférations de *Monocrysis lutherii* et de *Chaetoceros calcitrans* Paulsen dans le Planctotunnel en fonction du temps et des prises de récolte (L = litre)

JOURS DE CULTURE	NOMBRE DE CELLULES PAR MILLILITRE DE CULTURE *Monocrysis lutherii*		*Chaetoceros calcitrans*	
0	1.650.000		1.500.000	
1	1.900.000		1.850.000	
2	2.200.000		2.100.000	
3	3.000.000		2.950.000	
4	3.200.000		3.400.000	
5	3.900.000		3.700.000	
6	4.600.000		4.200.000	
7	4.800.000		4.900.000	
8	6.300.000		6.400.000	
9	6.900.000.		7.000.000	
10	7.260.000		7.300.000	
11	8.580.000		8.600.000	
12	9.300.000		9.500.000	
13	10.500.000		11.000.000	
14	10.000.000 6.740.000	20 L récolte	10.200.000 6.400.000	20 L récolte
15	8.640.000		7.800.000	
16	9.700.000		9.200.000	
17	9.800.000 5.000.000	34 L récolte	9.900.000 5.000.000	34 L récolte
18	5.890.000		5.700.000	
19	7.200.000		7.100.000	
20	8.700.000		8.600.000	
21	10.000.000		9.700.000	
22	11.000.000 5.900.000	34 L récolte	10.200.000 5.300.000	34 L récolte
23	6.800.000		6.000.000	
24	7.400.000		7.300.000	
25	8.700.000		8.000.000	
26	9.100.000 5.500.000	34 L récolte	8.800.000 4.700.000	34 L récolte
27	6.500.000		6.100.000	
28	7.500.000		7.200.000	
29	9.000.000		8.700.000	
30	9.500.000 5.000.000	34 L récolte	9.300.000 5.000.000	34 L récolte

Production en 1 mois de culture de 156 L de récolte ..... 156 L de récolte

Volume de culture dans le Planctotunnel : 70 L

Source : MNHN, Paris

l'on n'assure pas une extrême rigueur d'aseptie dans la manipulation du milieu neuf ajouté régulièrement après chaque récolte.

Perspectives

Cet appareil de culture que nous proposons d'appeler «Planctotunnel» est la base du montage d'une chaîne alimentaire marine, ou lacustre, complète : une première unité de planctotunnel servant d'usine productrice de phytoplancton qui alimente une seconde unité de planctotunnel produisant des microorganismes végétariens (BOUTRY et BORDES, 1978; GATESOUPE et LUQUET, 1981; HOWELL, 1973; BOUTRY, 1980).

Notre production de 34 litres de culture à 12 x 10^6 cel./ml tous les 4 jours nous donne un total de 408 x 10^9 cel./4 jours, soit 102 x 10^9 cel./jour, soit encore 714 x 10^9 cellules par semaine de culture. En comparaison, le montage décrit par Walne (1) en 1966 produit 290 x 10^9 cel./semaine avec un bac de 20 litres et enrichissement en CO_2, et le Chemostat de Droop produit 280 x 10^9 cel./semaine avec un bac de 15 litres et sans enrichissement de CO_2 (2) en 1975. La production obtenue avec le Planctotunnel est donc déjà 2,46 fois supérieure à ces références.

Nous travaillons maintenant à parfaire son automatisme, et les cotes indiquées ici seront probablement agrandies pour améliorer le rendement de l'appareil.

REMERCIEMENTS

Nous devons toute notre reconnaissance à MM. Marcel GUILLOT et Claude TAUNDEN pour leur aide lors du montage du Planctotunnel, et à Mlle Mireille COUTURIER pour la surveillance des cultures; (Écloserie «AQUAMARE», ARS en RE 17590).

BIBLIOGRAPHIE

BOUTRY, J.L., 1980 — Puissance, sélection et rapidité d'action de la Diatomée marine *Chaetoceros calcitrans* Paulsen face aux lipides de son environnement : sa réaction à un hydrocarbure marqué, le dotriacontane-16,17 ^{14}C. *Cryptogamie - Algologie* 1 (4) : 285-290.

BOUTRY, J.L. & BORDES, M., 1978 — Sur une méthode de récolte de Diatomées vivantes après culture. *Experientia* 34 : 415-416.

CLARCK, R.C., 1964 — Laboratory culture of algae. Thèse MIT. Cambridge, USA 11-19.

DROOP, M.R., 1975 — 10th European Symp. Mar. Biol., Ostende 1 : 71-93.

GATESOUPE, F.J. & LUQUET, P., 1981 — Practical diet for mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* : application to larval rearing of Sea Bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 22 : 149-163.

Source MNHN, Paris

HOWELL, B.R., 1973 — The effect of unicellular algae on the growth of early larvae of the turbot *Scophthalmus maximus*. *ICES Fish. Improv. Com. CM.* E : 21.

PROVASOLI, L., 1966 — Media and prospects for the cultivation of marine algae. *Repr. Jap. Soc. Plant. Physiol.* : 63-75.

SOEDER, C.J., 1974 — Current trends in large-scale cultivation of microalgae, in Food drugs from the sea. *Proc. Mar. Techn. Soc.* 1974, WEBBER H.H. & RUGIEN G.D. eds., USA : 72-87.

STOSCH von, H.A. & DREBES, G., 1964 — Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. *Helgol. Wiss. Meeresunters.* 11 : 209-257.

WALNE, P.R., 1966 — Fishery Invest. (London), Ser. II, 25 (4), 26 p.

Source MNHN, Paris